

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
5 février 2004 (05.02.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 2004/011938 A3

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :

G01N 33/50, 1/28, B01L 3/00

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2003/002298

(22) Date de dépôt international : 21 juillet 2003 (21.07.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :

02 09326 23 juillet 2002 (23.07.2002) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : COM-

MISSARIAT A L'ÉNERGIE ATOMIQUE [FR/FR];

31-33 rue de la Fédération, F-75015 PARIS (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) :

SCHAACK, Béatrice [FR/FR]; 17 rue Mozart, F-38000  
GRENOBLE (FR). CHATELAIN, François [FR/FR];  
413 rue H. Berlioz, F-38170 LE CHEVALON DE  
VOREPPE (FR). FOUQUE, Brigitte [FR/FR]; 3 av-  
enue A. Berges, F-38170 SEYSSINET (FR). FUCHS,  
Alexandra [FR/FR]; 2 rue Saint Robert, F-38120 SAINT  
EGREVE (FR). FOUILLET, Yves [FR/FR]; 17 chemin  
des carrières, F-38340 VOREPPE (FR).

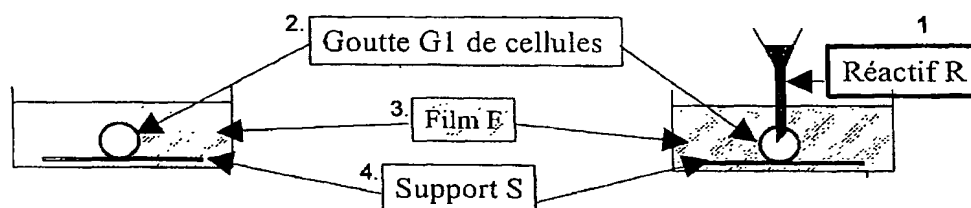
(74) Mandataires : ORES, Béatrice etc.; CABINET ORES,  
36 rue de Saint Petersburg, F-75008 PARIS (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD,  
SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,  
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR SCREENING MOLECULES IN CELLS

(54) Titre : PROCÉDE ET DISPOSITIF POUR LE CRIBLAGE DE MOLECULES DANS DES CELLULES



A. Goutte G1 sur support S

B. Injection de réactif R dans G1

1...REAGENT R

2...DROP G1 OF CELLS

3...FILM F

4...SUPPORT S

A...DROP G1 ON SUPPORT S

B...INJECTION OF REAGENT R IN G1

(57) Abstract: The invention concerns a method for reacting a reagent R with a cell C, which consists in: setting the cell C on a support S comprising a substantially planar surface, in the form of an aqueous drop on said surface; covering the planar surface of the support S whereon the aqueous drop has been set containing the cell C with a separation film F, allowing through gases and preventing the aqueous drops set on the support S from evaporating, F being non-miscible with the reagent R; triggering the reaction between the reagent R and the cell C by introducing the reagent R in the aqueous drop containing the cell C. The invention also concerns a device for implementing said procedure and its applications.

[Suite sur la page suivante]



(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publiée :**

- avec rapport de recherche internationale
- avec revendications modifiées

(88) Date de publication du rapport de recherche internationale:

5 août 2004

Date de publication des revendications modifiées:

16 septembre 2004

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.*

(57) Abrégé : L'invention concerne un procédé de mise en réaction d'un réactif R avec une cellule C, dans lequel :- la cellule C est déposée sur un support S comportant une surface sensiblement plane, sous forme d'une goutte aqueuse sur ladite surface,- la surface plane du support S sur laquelle a été déposée la goutte aqueuse contenant la cellule C est recouverte par un film de séparation F, permettant le passage des gaz et empêchant l'évaporation des gouttes aqueuses déposées sur le support S, F étant non miscible avec le réactif R,- la réaction entre le réactif R et la cellule C est déclenchée par l'introduction du réactif R dans la goutte aqueuse contenant la cellule C.L'invention concerne également un dispositif pour la mise en uvre de ce procédé et ses utilisations.

**REVENDICATIONS MODIFIEES**

[reçues par le bureau international le 06 août 2004 (06.08.04);  
revendications originales 1-59 remplacées par de nouvelles revendications 1-56 (7 pages)]

**REVENDICATIONS**

1°) Procédé de mise en réaction d'un réactif R avec au moins une cellule C, ledit procédé étant caractérisé en ce que :

- 5           - la cellule C est déposée sur un support S comportant une surface sensiblement plane, sous forme d'une goutte aqueuse sur ladite surface,
- la surface sensiblement plane du support S sur laquelle a été déposée la goutte aqueuse contenant la cellule C est recouverte par un film de séparation F, permettant le passage des gaz et empêchant l'évaporation des gouttes
- 10       aqueuses déposées sur le support S, F étant non miscible avec le réactif R,
- la réaction entre le réactif R et la cellule C est déclenchée par l'introduction du réactif R dans la goutte aqueuse contenant la cellule C,
- le support S présente sur sa surface plane un caractère hydrophobe et au moins un moyen destiné à la réception des gouttes aqueuses constitué par une ou
- 15       plusieurs zones hydrophiles.

2°) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'accrochage des gouttes sur le support S se fait par capillarité.

3°) Procédé selon la revendication 1 ou de la revendication 2, caractérisé en ce que le support S est constitué par une plaque d'un matériau choisi

20       parmi le silicium, le verre ou un polymère.

4°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'une goutte aqueuse contenant la cellule C est déposée sur le support S, une seconde goutte aqueuse contenant le réactif R est injecté, à l'aide de tout ou moyen d'injection approprié, directement dans la goutte contenant la cellule C.

25       5°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'une première goutte aqueuse est déposée sur le support S puis une seconde goutte aqueuse est déposée sur le même support à proximité de la première, l'une de ces gouttes contient la cellule C, l'autre le réactif R, la réaction du réactif R avec la cellule C est déclenchée par la fusion des deux gouttes.

30       6°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le réactif R est fixé au support S ou au film F, la cellule C est

déposée sous forme d'une goutte aqueuse sur le support S et le réactif R est alors décroché du support S ou du film F afin de permettre sa réaction avec la cellule.

7°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le film de séparation F est un liquide choisi parmi les huiles et les solvants organiques.

8°) Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que le film de séparation F est choisi parmi les huiles minérales et les huiles de silicone.

9°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le film de séparation F est de l'air saturé en humidité.

10°) Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le film de séparation F est un film souple, solide.

11°) Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que le film de séparation F est en polydiméthylsiloxane ou en nitrocellulose.

12°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le film de séparation F est un capot rigide alvéolé en matériau poreux.

13°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 caractérisé en ce que le dépôt des gouttes aqueuses contenant une ou plusieurs cellules ou un réactif sur le support S se fait au moyen de fins capillaires.

14°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 caractérisé en ce que le dépôt des gouttes aqueuses contenant une ou plusieurs cellules ou un réactif sur le support S se fait au moyen d'une buse.

15°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisé en ce qu'il comporte une étape de déplacement du support S après le dépôt sur le support S de la première série de gouttes.

16°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que les cultures de cellules sous forme de gouttes aqueuses sont conservées au moins 24 heures.

17°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisé en ce que plusieurs gouttes aqueuses comprenant chacune au moins une cellule sont déposées sur le support S, sous le film de séparation F, lesdites gouttes étant isolées les unes des autres.

18°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, caractérisé en ce qu'une goutte contient de 1 à 100 cellules.

19°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 17 et 18, caractérisé en ce que l'on place des cellules différentes dans les différentes gouttes.

5 20°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 17 et 18, caractérisé en ce que l'on place des cellules identiques dans les différentes gouttes.

21°) Procédé selon la revendication 20, caractérisé en ce que le support est une plaque hydrophobe comportant des zones hydrophiles et que l'étape d'injection des gouttes aqueuses contenant des cellules est remplacé par l'immersion  
10 de la plaque dans une solution aqueuse contenant les cellules.

22°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 21, caractérisé en ce que les molécules de réactif sont préparées directement après dépôt sur le support, par un procédé choisi parmi la synthèse *in situ*, la transcription *in vitro* dans la goutte, la réaction de polymérisation en chaîne peptidique et nucléique.

15 23°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 22, caractérisé en ce que le réactif est une molécule d'ADN.

24°) Procédé selon la revendications 23, caractérisé en ce que l'ADN est sous forme précipitée, notamment sous forme de phosphate de calcium.

20 25°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 22, caractérisé en ce que le réactif est facteur de transcription.

26°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 25, caractérisé en ce que l'on dépose successivement plusieurs réactifs destinés à réagir avec une même cellule.

27°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 26, caractérisé en ce que l'on dépose plusieurs gouttes aqueuses renfermant des cellules et on fait fusionner ces gouttes.  
25

28°) Procédé selon la revendication 27, caractérisé en ce que l'on dépose des cellules gliales et des neurones pour les faire communiquer au sein d'une même goutte.

30 29°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 28, caractérisé en ce que l'on fait réagir des réactifs dans un premier type de cellules de façon à déclencher une réaction cellulaire, telle que la production d'une protéine

recombinante puis on fait réagir cette première cellule avec une cellule d'un autre type par fusion avec une autre goutte.

30°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 dans lequel le support comporte des moyens de séparation, caractérisé en ce que l'on dépose une goutte aqueuse comprenant au moins une cellule d'un premier type d'un  
5 coté du moyen de séparation et une goutte aqueuse comprenant au moins une cellule d'un second type de l'autre côté du moyen de séparation puis que l'on opère la fusion des gouttes cellulaires.

31°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 30, caractérisé en ce que le réactif est choisi parmi les molécules marquées, notamment  
10 les marqueurs fluorescents et radioactifs.

32°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 31, caractérisé en ce que la cellule est choisie parmi : des cellules primaires, des hybridomes, des lignées de cellules, des cellules souches, un morceau de tissu  
15 cellulaire, et leurs mélanges.

33°) Dispositif permettant la mise en réaction d'un réactif R avec une cellule C, ce dispositif étant caractérisé en ce qu'il comporte :

- un support S comportant une surface sensiblement plane à caractère hydrophobe et au moins un moyen destiné à la réception des gouttes  
20 aqueuses, constitué d'une ou plusieurs zones hydrophiles, la surface S étant recouverte d'un film de séparation F permettant le passage des gaz et empêchant l'évaporation des gouttes aqueuses déposées sur le support, F étant non miscible avec le réactif R,

- des moyens permettant le dépôt sur ladite surface et sous le film F, de gouttes aqueuses contenant la cellule C,

- une enceinte à atmosphère contrôlée dans laquelle est placé le support S de façon à permettre la survie de la cellule C.

25

34°) Dispositif selon la revendication 33, caractérisé en ce que le support S est constitué par une plaque d'un matériau choisi parmi le silicium, le verre ou un polymère.

35°) Dispositif selon la revendication 33 ou la revendication 34, caractérisé en ce que le moyen destiné à la réception des gouttes aqueuses consiste en des zones de la surface plane du support S d'une taille allant de  $5 \mu\text{m}^2$  à  $5 \text{mm}^2$ .

30

36°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 35, caractérisé en ce que le support S présente au moins l'une des caractéristiques a) à c) ci-dessous :

a) le support S comporte sur sa surface plane des cavités, d'une  
5 profondeur allant de 1 micron à 1 millimètre constituant le moyen de réception ;

b) le support S est une plaque munie d'excroissances d'épaisseur allant de 1 micron à 1 millimètre, disposées sur sa surface et destinées à favoriser l'accrochage des gouttes ;

c) le support S est une plaque munie d'au moins un fil, sur lequel  
10 viennent s'accrocher les gouttes.

37°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 36, caractérisé en ce que les moyens permettant le dépôt des gouttes aqueuses sur le support S consistent en de fins capillaires.

38°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 37,  
15 caractérisé en ce que les moyens permettant le dépôt des gouttes aqueuses sur le support S consistent en un système piézoélectrique muni d'une buse.

39°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 38, caractérisé en ce que le support S du dispositif est mobile.

40°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 39,  
20 caractérisé en ce que le support S est constitué d'un film solide fixé à des rouleaux à ses deux extrémités, les rouleaux étant munis de moyens de bobinage de façon à permettre le déplacement du film et donc le déplacement des gouttes qui ont été déposées dessus.

41°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 40,  
25 caractérisé en ce qu'il comporte en outre au moins un moyen choisi parmi :

- des moyens permettant d'apporter de l'énergie à une ou plusieurs gouttes déposées sur le support ;

- des moyens de traitement optique d'une ou plusieurs gouttes déposées sur le support ;

30 - des moyens d'application d'un champ magnétique ou d'un champ électrique à une ou plusieurs gouttes déposées sur le support ;

- des moyens de détection focalisés sur une ou plusieurs gouttes déposées sur le support ;

- des moyens destinés à favoriser la transfection.

42°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 41, caractérisé en ce que les moyens utilisés dans le dispositif sont reliés à un dispositif de contrôle permettant son automatisation.

43°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 42, caractérisé en ce que le support comprend des moyens de réception disposés de façon régulière sous forme de matrices.

44°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 43, caractérisé en ce que le support est muni de moyens de séparation permettant de séparer deux types de cellules distincts mais autorisant le passage de petites molécules entre ces cellules.

45°) Dispositif selon la revendication 44, caractérisé en ce que les moyens de séparation sont disposés au niveau des moyens de réception, sur le support.

46°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 45, caractérisé en ce que les gouttes aqueuses contenant une ou plusieurs cellules comportent un milieu de culture.

47°) Dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 46, caractérisé en ce que le support est doté d'une surface dont les propriétés d'hydrophilie/hydrophobie peuvent varier sous l'influence d'un paramètre tel que la température, un champ électrique, un champ magnétique, une irradiation.

48°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour réaliser simultanément et de façon automatisée un grand nombre de réactions d'un réactif sur une cellule en faisant varier la nature du réactif et de la cellule.

49°) Utilisation selon la revendication 48, pour réaliser le criblage d'un ensemble de composés chimiques sur des cellules vivantes.

50°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour étudier des systèmes cellulaires choisis parmi : les réseaux de neurones, l'épiderme.



51°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour étudier l'action sur une cellule d'un réactif choisis parmi : les molécules d'acides nucléiques, les protéines, les peptides, les molécules d'acide nucléique peptidique.

5 52°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour l'expression de protéines recombinantes.

53°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour réaliser le criblage de molécules nucléiques destinées à modifier l'expression de gènes dans les cellules.

10 54°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour rechercher des séquences génomiques promotrices.

55°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour étudier les interactions entre des cellules de différents types.

15 56°) Utilisation d'un dispositif selon l'une quelconque des revendications 33 à 47 pour préparation et le criblage d'ARNsi.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
5 février 2004 (05.02.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 2004/011938 A3

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :

G01N 33/50, 1/28, B01L 3/00

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2003/002298

(22) Date de dépôt international : 21 juillet 2003 (21.07.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :

02 09326 23 juillet 2002 (23.07.2002) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : COM-

MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR];  
31-33 rue de la Fédération, F-75015 PARIS (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) :

SCHAACK, Béatrice [FR/FR]; 17 rue Mozart, F-38000  
GRENOBLE (FR). CHATELAIN, François [FR/FR];  
413 rue H. Berlioz, F-38170 LE CHEVALON DE  
VOREPPE (FR). FOUQUE, Brigitte [FR/FR]; 3 av-  
enue A. Berges, F-38170 SEYSSINET (FR). FUCHS,  
Alexandra [FR/FR]; 2 rue Saint Robert, F-38120 SAINT  
EGREVE (FR). FOUILLET, Yves [FR/FR]; 17 chemin  
des carrières, F-38340 VOREPPE (FR).

(74) Mandataires : ORES, Béatrice etc.; CABINET ORES,  
36 rue de Saint Petersburg, F-75008 PARIS (FR).

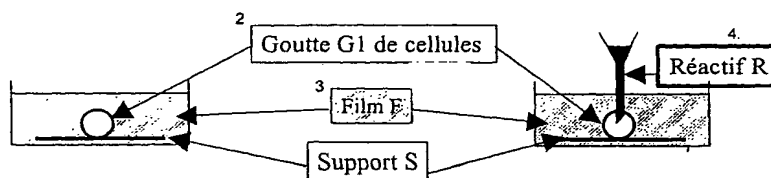
(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD,  
SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,  
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR SCREENING MOLECULES IN CELLS

(54) Titre : PROCEDE ET DISPOSITIF POUR LE CRIBLAGE DE MOLECULES DANS DES CELLULES

1. transfection par injection de gouttes : R dans G1



A. Goutte G1 sur support S



B. Injection de réactif R dans G1

1...TRANSFECTION BY INJECTION OF DROPS: R INTO G1

2...DROP G1 OF CELLS

3...FILM F

4...REAGENT R

A...DROP G1 ON SUPPORT S

B...INJECTION OF REAGENT R IN G1

(57) Abstract: The invention concerns a method for reacting a reagent R with a cell C, which consists in: setting the cell C on a support S comprising a substantially planar surface, in the form of an aqueous drop on said surface; covering the planar surface of the support S whereon the aqueous drop has been set containing the cell C with a separation film F, allowing through gases and preventing the aqueous drops set on the support S from evaporating, F being non-miscible with the reagent R; triggering the reaction between the reagent R and the cell C by introducing the reagent R in the aqueous drop containing the cell C. The invention also concerns a device for implementing said procedure and its applications.

[Suite sur la page suivante]



WO 2004/011938 A3



(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publiée :**

— avec rapport de recherche internationale

— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

(88) Date de publication du rapport de recherche internationale:

5 août 2004

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) **Abrége :** L'invention concerne un procédé de mise en réaction d'un réactif R avec une cellule C, dans lequel :- la cellule C est déposée sur un support S comportant une surface sensiblement plane, sous forme d'une goutte aqueuse sur ladite surface,- la surface plane du support S sur laquelle a été déposée la goutte aqueuse contenant la cellule C est recouverte par un film de séparation F, permettant le passage des gaz et empêchant l'évaporation des gouttes aqueuses déposées sur le support S, F étant non miscible avec le réactif R,- la réaction entre le réactif R et la cellule C est déclenchée par l'introduction du réactif R dans la goutte aqueuse contenant la cellule C.L'invention concerne également un dispositif pour la mise en uvre de ce procédé et ses utilisations.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

FR 03/02298

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 G01N33/50 G01N1/28 B01L3/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N B01L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"Toxicity bioassay of heavy metals in water using Tetrahymena pyriformis" WATER RESEARCH 1973, vol. 7, no. 7, 1973, pages 951-961, XP008026543	1-33
Y	page 952, paragraph 3 -page 953, paragraph 1	34-59
X	WO 97/39328 A (AUSTRALIAN BIOMEDICAL ;PALANDER JARI (AU)) 23 October 1997 (1997-10-23) the whole document --- -/---	1-33
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.</span> <span><input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.</span> </div>		
* Special categories of cited documents :		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>*Z* document member of the same patent family</p> </div> </div>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
3 June 2004		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Pellegrini, P	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ional Application No

FR 03/02298

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ZIAUDDIN JUNAID ET AL: "Microarrays of cells expressing defined cDNAs." NATURE (LONDON), vol. 411, no. 6833, 2001, pages 107-110, XP002246363 ISSN: 0028-0836 cited in the application page 107, column 2, paragraph 2 ----	1-33
A	WO 98/41869 A (CHROMAXOME CORP) 24 September 1998 (1998-09-24) claims 1,8 ----	1-33
Y	WO 99/55827 A (AMERSHAM PHARM BIOTECH UK LTD ;THOMAS NICHOLAS (GB)) 4 November 1999 (1999-11-04) the whole document -----	34-59

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-33

Method for reacting a reagent with cells, including:

- (a) depositing an aqueous drop containing the cells onto a substrate having a planar surface;
- (b) covering the drop with a film, e.g. of mineral oil, that enables gas to pass therethrough but prevents evaporation of the drop, and is non-miscible with the reagent; and
- (c) inserting the reagent into the drop.

2. claims: 34-59

Device including:

- (a) a substrate with a planar surface covered with a film, e.g. of mineral oil, that enables gas to pass therethrough but prevents evaporation of a drop deposited on the substrate;
- (b) means for depositing aqueous drops containing cells onto the substrate and under the film; and
- (c) a chamber with a controlled atmosphere.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

FR 03/02298

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9739328	A	23-10-1997	AU 718761 B2	20-04-2000
			AU 2281697 A	07-11-1997
			WO 9739328 A1	23-10-1997
			EP 0892919 A1	27-01-1999
			JP 2000508423 T	04-07-2000
			US 6218191 B1	17-04-2001
WO 9841869	A	24-09-1998	AU 6571598 A	12-10-1998
			CA 2284066 A1	24-09-1998
			EP 0975969 A1	02-02-2000
			WO 9841869 A1	24-09-1998
WO 9955827	A	04-11-1999	AT 244755 T	15-07-2003
			CA 2330034 A1	04-11-1999
			DE 69909462 D1	14-08-2003
			DE 69909462 T2	15-04-2004
			DK 1073709 T3	03-11-2003
			EP 1298198 A2	02-04-2003
			EP 1073709 A1	07-02-2001
			ES 2203098 T3	01-04-2004
			WO 9955827 A1	04-11-1999
			JP 2002512783 T	08-05-2002
			US 2004058408 A1	25-03-2004
			US 6632656 B1	14-10-2003

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

ide Internationale No

/FR 03/02298

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 G01N33/50 G01N1/28 B01L3/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 G01N B01L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	"Toxicity bioassay of heavy metals in water using Tetrahymena pyriformis" WATER RESEARCH 1973, vol. 7, no. 7, 1973, pages 951-961, XP008026543	1-33
Y	page 952, alinéa 3 -page 953, alinéa 1 ----	34-59
X	WO 97/39328 A (AUSTRALIAN BIOMEDICAL ;PALANDER JARI (AU)) 23 octobre 1997 (1997-10-23) le document en entier ----- -/-	1-33

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

\*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

\*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

\*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

\*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

\*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

\*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

3 juin 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

22.06.2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Pellegrini, P



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

nde Internationale No

/FR 03/02298

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>ZIAUDDIN JUNAID ET AL: "Microarrays of cells expressing defined cDNAs."  NATURE (LONDON),  vol. 411, no. 6833, 2001, pages 107-110,  XP002246363  ISSN: 0028-0836  cité dans la demande  page 107, colonne 2, alinéa 2</p>	1-33
A	<p>WO 98/41869 A (CHROMAXOME CORP)  24 septembre 1998 (1998-09-24)  revendications 1,8</p>	1-33
Y	<p>WO 99/55827 A (AMERSHAM PHARM BIOTECH UK LTD ;THOMAS NICHOLAS (GB))  4 novembre 1999 (1999-11-04)  le document en entier</p>	34-59

**Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

**Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☒ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup>

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant
- ☒ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-33

Procédé de mise en réaction d'un réactif avec des cellules comprenant:

- (a) la déposition d'une goutte aqueuse contenant les cellules sur un support comportant une surface plane;
- (b) la couverture de la goutte avec un film permettant le passage de gaz et empêchant l'évaporation de la goutte, et étant non miscible avec le réactif, par exemple de l'huile minérale;
- (c) l'introduction du réactif dans la goutte.

2. revendications: 34-59

Dispositif comprenant:

- a) un support à surface plane recouverte d'un film permettant le passage de gaz et empêchant l'évaporation d'une goutte aqueuse déposée sur le support, par exemple de l'huile minérale;
- (b) des moyens pour le dépôt sur la surface et sous le film de gouttes aqueuses contenant des cellules;
- (c) une enceinte à atmosphère contrôlée.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

t :de Internationale No  
/FR 03/02298

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9739328	A	23-10-1997	AU 718761 B2	20-04-2000
			AU 2281697 A	07-11-1997
			WO 9739328 A1	23-10-1997
			EP 0892919 A1	27-01-1999
			JP 2000508423 T	04-07-2000
			US 6218191 B1	17-04-2001
WO 9841869	A	24-09-1998	AU 6571598 A	12-10-1998
			CA 2284066 A1	24-09-1998
			EP 0975969 A1	02-02-2000
			WO 9841869 A1	24-09-1998
WO 9955827	A	04-11-1999	AT 244755 T	15-07-2003
			CA 2330034 A1	04-11-1999
			DE 69909462 D1	14-08-2003
			DE 69909462 T2	15-04-2004
			DK 1073709 T3	03-11-2003
			EP 1298198 A2	02-04-2003
			EP 1073709 A1	07-02-2001
			ES 2203098 T3	01-04-2004
			WO 9955827 A1	04-11-1999
			JP 2002512783 T	08-05-2002
			US 2004058408 A1	25-03-2004
			US 6632656 B1	14-10-2003